

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K10576

研究課題名(和文) 管腔外から認識可能な蛍光消化管クリップの開発と応用

研究課題名(英文) Development and application of new gastrointestinal fluorescent clip system which can be detected from outside

研究代表者

亀井 尚 (Kamei, Takashi)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：10436115

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、消化管の管腔外から特定の部位を高感度の蛍光シグナルにて検出するクリップを開発、応用することを目的とした。研究期間内に以下の成果を得た。1. 蛍光内視鏡の開発、改良を行った。2. 新規蛍光物質PIDを担持させた消化管クリップを作成し、その蛍光特性を解析した。3. プタモデルで、食道、胃、大腸で実際にクリップの蛍光検出を確認した。4. 消化管粘膜の病理学的検討により、クリップによる影響はないことを確認した。5. 消化液を想定した強酸、弱アルカリと蛍光クリップの影響の検討でも、大きな変化がないことを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

消化管癌に対する内視鏡手術は急速に広まり、標準手術として行われている一方、直接手で触れることができないため、視覚だけでは腫瘍局在が分からないというデメリットがある。これは特に手術で完治可能な早期癌で起こり得る事象である。研究者が開発した強い蛍光シグナルを持つ消化管クリップを術前に局所に打っておくことで、術中リアルタイムに近赤外光を検出でき、局在を可視化することが可能である。より正確な癌切除範囲の決定、過不足ないリンパ節郭清に大きなメリットがあり、手術時間短縮、誤った切離ライン設定の回避、術後合併症軽減が期待される。

研究成果の概要(英文)：The aim of this research was development of a new fluorescent endoscopic clip system which is detected through gastrointestinal wall and we had the study results as below. 1. We have developed and improved a new fluorescent endoscopic system. 2. We created an original fluorescent clip system with PID, new organic fluorescent probe, and analyzed the property of this clip. 3. We successfully detected the fluorescent signal of the clips from outside of the gastrointestinal tract (esophagus, stomach, colon) in pig model using our original surgical system. 4. We confirmed that gastrointestinal mucosa was not affected by the clip from the pathological examination. 5. We also confirmed that there was no significant change of fluorescent property in the examination of the effects with acid or alkali assuming digestive juice.

研究分野：消化器外科学

キーワード：内視鏡手術 蛍光計測 近赤外光 リアルタイムナビゲーション 消化管クリップ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

内視鏡下手術は、創が小さく低侵襲なことにより、近年、急速に広まっている。消化器外科領域では、食道、胃、大腸などの消化管癌は患者数も多く、また早期に発見される例も多くなり、腹腔鏡、胸腔鏡手術が標準術式となっている。一方、この内視鏡下手術のデメリットとして、触覚情報が限定されること、特に手指で感じるような繊細な触覚情報は欠如していることが問題となってきた。そのため、内視鏡手術では視覚だけで癌の局在を認識しなければならない。これまで、癌の局在を術中に認識する方法として、点墨法や消化管クリップ法が行われてきた。点墨法は、内視鏡施行医の技量の差や点墨の特性から、点墨の広がりが不均一で、正確な認識と範囲決定ができないなど問題が多い。また、消化管クリップは確実に腫瘍近傍に打つことができ、数日は目的部位にとどまっているが、内視鏡下手術でこのクリップを認識することは非常に困難である。したがって、視覚腫瘍局在を正確に認識可能な方法の開発が強く望まれている。

蛍光計測技術の医療応用は、ICGをプローブとした肝臓癌の局在診断などで行われるようになってきたが、いまだ一般的ではなく応用範囲は限定的である。私は蛍光シグナルを発する消化管クリップを開発・実用化できれば、内視鏡下手術における腫瘍局在を全く新しい方法で、術中リアルタイムに認識可能となると着想した。癌の局在を正確にとらえることで、合理的な切除範囲の決定と断端陽性例の回避、過不足ないリンパ節郭清の実施、手術時間の短縮など、多くの利点をもたらされる。

2. 研究の目的

本研究では、消化管の管腔外から認識可能な、新規の消化管蛍光クリップを開発し、術中リアルタイムに蛍光シグナルを観察する手法を確立すること、及び、これを臨床応用した次世代の内視鏡下手術を展開することを目的とする。そのためには、蛍光検出内視鏡機器の開発、蛍光プローブの開発とそれを担持させた消化管クリップの作成、実際に蛍光シグナルを検出する条件と蛍光特性の解析、消化液による蛍光特性への影響や、蛍光クリップが消化管粘膜に及ぼす影響や毒性などの課題を解決する必要がある。蛍光内視鏡クリップが実臨床で応用されればそのインパクトは非常に大きい。

3. 研究の方法

以下の5項目を研究対象とした。なお、蛍光プローブは、共同研究者コニカミノルタMG(株)と開発した新規の有機系蛍光ナノ粒子PID(Phosphor Integrated Dot nanoparticle)を使用した。PIDは従来の蛍光物質よりも数十~一万倍の蛍光強度でほとんど退色しないという特性を持つ。また、人体に無害と思われる有機系粒子であることの利点も大きい。蛍光波長は近赤外に設定した。可視光外であるため、通常の手術操作時は術野に影響がなくこれまでと同様の手技が施行できる。

1) 蛍光内視鏡システムの開発・改良

これまでに独自に蛍光内視鏡システムを試作してきたが、より深部まで励起光が到達するようにレーザー出力を上げ、検出力を向上させる改良を行う。

2) 蛍光クリップの作成

消化管内視鏡クリップは、病変位置マーキング、止血処置などの内視鏡治療に用いられている市販のものを使用した。PIDを担持・内包させた蛍光消化管内視鏡クリップを作成し、通常と同様にファイア可能かの検討とともに、その蛍光特性をin vitroで測定する。

3) 実際に管腔外から蛍光シグナルを検出するin vivo実験

ブタを大動物モデルとして、全身麻酔下に消化管(食道・胃・大腸)内にクリッピングを行った後に、前述の内視鏡システムを用い、胸腔内・腹腔内に挿入し、消化管腔外から蛍光シグナルを検出可能か検討する。同時に適切な条件も検討する。

4) 蛍光クリップの消化管粘膜への影響

PIDは有機系粒子であり、それを内包した基質をクリップに担持させても生体への悪影響はないと予想される。クリッピング後1~2日の時間において消化管粘膜を病理学的に検討し、その影響を見る。

5) 消化液が蛍光クリップに及ぼす影響

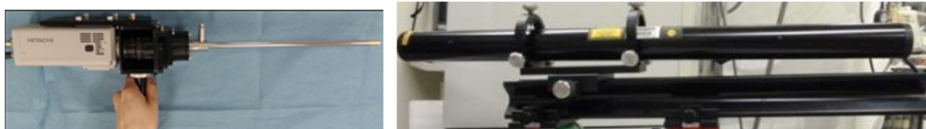
胃液・腸液を、強酸・弱アルカリ液をと想定し、蛍光クリップに数十分程度作用させその蛍光特性への影響を比較検討する。

4. 研究成果

前述の研究項目を実施し、以下の研究成果を得た

1) 蛍光内視鏡システムの開発・改良

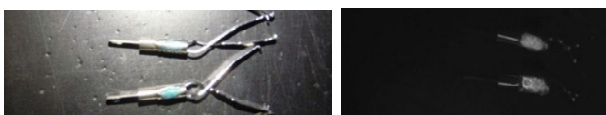
高感度蛍光計測装置を内視鏡手術に用いるため、硬性腹腔鏡に可変型バンドパスフィルターを組み込み、片手で持つことができる装置を開発した。高出力な励起光を出すためにこの装置とは別にレーザー出力装置を設置し、ケーブルで連結した。カメラ部分の総重量は約1.5kgで数時間の手術に応用することが可能である。将来的にはさらに軽量化、コンパクト化して使い勝手を良くしていく必要はある。また、バンドパスフィルターは目的とする蛍光波長に合わせて手元で選択切替え可能な構造となっているため、将来的には複数種類のプローブによる多重蛍光シグナルの検出が可能となる。



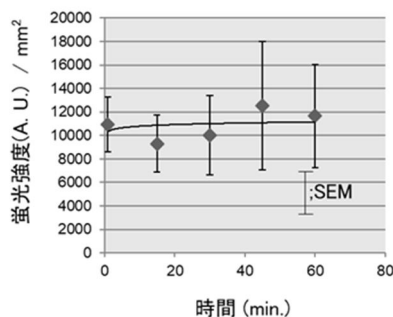
片手で保持可能な内視鏡(左)と高出力レーザーシステム(右)をケーブルで連結させたシステムを構築

2) 内視鏡用蛍光消化管クリップの作成

PIDと接着剤を混ぜ、これを消化管内視鏡用クリップ(外径2mm)の基部のシース部に内包・担持させ、蛍光クリップを作成した。このクリップは、軟性内視鏡鉗子口へのスムーズな挿入が可能で、クリッピングも問題なく可能であることを確認している。また、本クリップの蛍光特性を測定したところ、蛍光強度は従来の蛍光粒子と比較して数十倍高く、退色も観察範囲内では消退を認めなかった。より強い近赤外光を発生し、連続励起に対しても安定した蛍光シグナルが観察可能であることを証明した。また担持させる粒子量を増やす目的でシート状にした基質を巻き付ける試みを行ったが鉗子口を通してうまくファイアできず、更なる工夫が必要である。

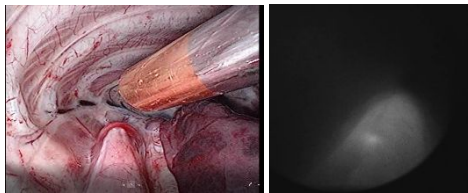


PIDを担持したクリップと励起状態での近赤外光シグナル(左)。蛍光強度が高くほとんど退色しない。(右)



3) 大動物モデルによる蛍光計測実験

全身麻酔下で食道・胃・大腸に軟性内視鏡でクリッピングを行った後、腹腔鏡・胸腔鏡で観察したところ、食道・大腸では蛍光シグナルを観察でき局所を特定できた。病変部の同定において臨床応用可能である。一方、胃では胃壁の厚さが影響して励起光が届かない原因と蛍光シグナルの検出も困難であり、通常法では観察できなかった。クリップを打った胃前壁を圧排することでわずかに蛍光を検出できたが、後壁のクリッピングでは観察はできなかった。今後、胃での方法論は更なる検討が必要である。蛍光強度を高める工夫や励起光が到達するための方策が望まれる。消化管壁の厚さは、現状の本システムでは大きく影響する。



ブタ食道における蛍光観察。事前にクリッピングした位置をピンポイントに同定可能

4) 蛍光クリップの消化管粘膜への影響

クリッピング後1日おいてブタを犠牲死させ、消化管粘膜をHE染色し、病理学的に検討した。粘膜の変化は全く認めず、少なくとも臨床応用に向けて問題がないことを確認するとともに、蛍光クリップによる急性毒性も認めなかった。

5) 消化液が蛍光クリップに及ぼす影響

強酸・弱アルカリ液に蛍光クリップを浸し、60分程度作用させたのちに、蛍光特性を解析した。蛍光強度にはほとんど影響せず、持続性も保たれていることが分かった。臨床応用において消化液が問題になることはない判断できた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	藤島 史喜 (Fujishima Fumiyoishi) (40451596)	東北大学・医学系研究科・准教授 (11301)	
研究分担者	多田 寛 (Tada Hiroshi) (50436127)	東北大学・医学系研究科・准教授 (11301)	
研究分担者	権田 幸祐 (Gonda Kosuke) (80375435)	東北大学・医学系研究科・教授 (11301)	
研究分担者	大内 憲明 (Ohuchi Noriaki) (90203710)	東北大学・医学系研究科・客員教授 (11301)	
研究分担者	櫻井 直 (Sakurai Tadashi) (40451570)	東北大学・大学病院・助教 (11301)	
研究分担者	岡本 宏史 (Okamoto Hiroshi) (80732487)	東北大学・東北メディカルメगाバンク機構・助教 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------